N Látex Cystatin C

Campo de aplicação - N Látex Cystatin C é um kit de diagnóstico in vitro contendo reagentes para a determinação quantitativa da cistatina C no soro humano e no plasma heparinizado, através da imunonefelometria de partículas reforçadas nos sistemas BN*, para a avaliação do funcionamento dos rins.
Significado diagnóstico - Cystatin C é um inibidor da proteinase de cistatina com um peso molecular relativo de 13.250, que é formado por todas as células nucleadas investigadas1,2. A taxa de formação constante e a circunstância de ser filtrada livremente pelos rins saudáveis, fazem desta proteína um bom marcador do funcionamento renal. A concentração sérica da cistatina C dependente praticamente, exclusivamente, da capacidade de filtração glomerular dos rins3,4. Uma redução da taxa de filtração glomerular (GFR) provoca um aumento da concentração de cistatina C. Esta apresenta vantagens consideráveis quando comparada com a concentração de creatinina no soro, que também está sujeita a outras influências, por ex., a massa muscular e a nutrição. Além disso, o aumento de creatinina só se torna evidente com uma redução da GFR de aprox. 50 %.
Princípio metodológico - As partículas de poliestireno, carregadas com anticorpos específicos contra a cistatina C humana, ao serem misturadas com amostras contendo cistatina C formam aglutinados que dispersam a luz irradiada.
A intensidade da luz dispersa depende da concentração da respectiva proteína na amostra.
Avaliação é efectuada por comparação com um padrão de uma concentração conhecida.

Reagentes

Conteúdo da embalagem comercial

Kit N Látex Cystatin C, ref. OQNM
Reagente N Cystatin C, três frascos com 2 ml cada
Reagente complementar A de N Cystatin C, três frascos com 0,5 ml cada
Reagente complementar B de N Cystatin C, um frasco com 1,6 ml
Controlo N Cystatin C, Level 1, três frascos para 1 ml cada
Controlo N Cystatin Ce, Level 2, três frascos para 1 ml cada

Composição e estandardização

O reagente N Cystatin C é composto por uma suspensão de partículas de poliestireno, carregadas com aprox. 0,03 g/l de anti cistatina humana C do coelho.
O reagente complementar A de N Cystatin C contém imunoglobulina de coelho (14 g/l) numa solução tamponada.
O reagente complementar B de N Cystatin C é composto por uma solução aquosa de monolaureato de sorbitano de polietilenoglicol (85 g/l) e éter de polietilenoglicol (27 g/l).
O controlo N Cystatin C, Level 1 e o controlo N Cystatin C, Level 2 são liofilizados de poligelinas com proteínas de urina de proveniência humana. A concentração de cistatina C foi calibrada tomando-se como referência a cistatina C purificada. Após a reconstituição dos controles, a concentração de cistatina C está indicada no respectivo rótulo.

Conservantes

Reagente N Cystatin C:	Gentamicina 6,25 mg/l, Anfotericina 0,625 mg/l
Reagente complementar A e B de N Cystatin C:	Azida de sódio <1 g/l
Controlo N Cystatin C, Level 1 e Level 2 após reconstituição:	Azida de sódio <1 g/l

Advertências e medidas de precaução

1. Só para uso diagnóstico in vitro.
2. Precauções a observar ao lidar com reagentes para diagnóstico in vitro que contêm azidas de sódio:
Evitar a ingestão ou contacto com a pele ou mucosas. Se forem eliminados no esgoto, lavar com muita água. A azida de sódio em contacto com metais pesados como o cobre ou o chumbo, pode formar azidas explosivas.
3. Cada dádiva individual utilizada no fabrico do reagente N Cystatin C e do controlo N Cystatin C Level 1 e Level 2 foram testados para detectar a presença de HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV1 e Anti-HIV2. No fabrico apenas foram utilizadas dádivas com resultado negativo. Independentemente disso, todos os materiais obtidos a partir de tecido humano ou humores corporais devem ser manuseados com as precauções devidas, seguindo as medidas de segurança recomendadas em caso de risco biológico, devido a não poder excluir-se totalmente o risco provocado pelos micróbios patogênicos.

Preparação dos reagentes

Reagente N Cystatin C: O reagente está pronto para uso e pode ser utilizado sem qualquer tratamento prévio. Antes usar a primeira vez, deverá ser agitado cuidadosamente.
Reagente complementar N Cystatin C: Num frasco com reagente complementar A N Cystatin C, adiciona-se e mistura-se 0,5 ml de reagente complementar B N Cystatin.
Controlo N Cystatin C, Level 1 e Level 2: O conteúdo liofilizado de um frasco é dissolvido em 1,0 ml de água destilada. Mistura-se a solução, agitando cuidadosamente. O controlo N Cystatin C, Level 1 ou Level 2 pode ser usado 30 minutos após a reconstituição.
Estabilidade e condições de conservação - Conservação entre +2 e +8 ºC:
A data de expiração está indicada no rótulo; Estabilidade após abertura ou reconstituição:

duas semanas (reagente N Cystatin C, bem como a mistura dos reagentes complementares N Cystatin C) e quatro semanas (controlo N Cystatin C Level 1 e Level 2 reconstituído), desde que, imediatamente após o uso, sejam novamente conservados hermeticamente fechados entre +2 e +8 °C. Os reagentes não podem ser congelados.
Estabilidade nos sistemas BN*:
Cinco dias, no mínimo, com oito horas por dia ou período de tempo equivalente.
Nota: A estabilidade "on-board" depende do sistema BN* utilizado e das condições laboratoriais.
O manual de utilização dos sistemas BN* contêm indicações mais amplas.
A estabilidade "on-board" do controlo N Cystatin C Level 1 e Level 2 no sistema BN ProSpec® está indicada no manual de utilização do sistema.

Outros materiais necessários

Sistema BN*
N Protein Standard UY, ref. OQLV
Cleaner SCS, ref. OQUB (para o sistema BN* II e BN ProSpec®)
N Diluente, ref. OUMT
BN* II Evaporation Stoppers (opcionais), ref. OVLE
Material de consumo e equipamento descrito no manual de utilização dos sistemas BN*.

Material de análise - Para a medição deverão ser utilizadas amostras de soro humano ou de plasma heparinizado, tão frescas quanto possível, (conservadas sete dias, no máximo, entre +2 e +8 °C) ou amostras de soro humano ou de plasma heparinizado conservadas congeladas. Se as amostras forem congeladas num período de tempo de 24 horas após a colheita, podem ser conservadas durante três meses a uma temperatura inferior a -20 °C, se se evitar que as mesmas sejam descongeladas e congeladas novamente. As amostras de soro devem estar completamente coaguladas e não apresentar partículas ou vestígios de fibrina após a centrifugação. As amostras lipémicas ou as amostras congeladas que se apresentem turvas após a descongelação, deverão ser clarificadas através de centrifugação (10 min. a aprox.15.000 x g) antes de a determinação ser feita.

Procedimento

Notas

1. Os pormenores para a manipulação dos sistemas BN* deverão ser retirados do respectivo manual de utilização.
2. É necessário respeitar o tempo indicado para a reconstituição dos reagentes liofilizados (30 minutos, no mínimo, após adição de água destilada).
3. Antes da medição no sistema BN* 100, os reagentes e as amostras deverão ter atingido a temperatura ambiente (+15 a +25 °C). Os reagentes e amostras armazenadas entre +2 e +8 °C podem ser utilizados diretamente no sistema BN* II e BN ProSpec® para determinação.
4. No sistema BN* 100 a medição das amostras deverá ser efetuada à mesma temperatura ambiental (desvio máximo de 3 □C) a que foi registrada a curva de referência.

Protocolo de ensaio nos sistemas BN* - O protocolo de ensaio para o soro e o plasma está contido no manual de utilização para o sistema BN* e no Software do aparelho respectivo. Todos os passos são executados automaticamente pelo sistema.

Estabelecimento da curva de referência - As curvas de referência são obtidas por uma calibração de pontos múltiplos. Para o estabelecimento da curva de referência são efetuadas automaticamente séries de diluição do N Protein Standard UY com o N Diluente. As diluições padrão têm de ser utilizadas dentro de quatro horas.
A curva de referência permanece válida durante duas semanas. Pode ser utilizada para além desse período de tempo, desde que os controles com valores dependentes do processo, tais como o controlo N Cystatin C Level 1 e Level 2 se encontrem compreendidos dentro do intervalo de confiança.
Se utilizar outro lote de reagente, é necessário estabelecer uma nova curva. O intervalo de medição exata depende da concentração de proteína de cada lote de N Protein Standard UY. Os intervalos de medição típicos estão indicados no manual de utilização dos respectivos sistemas BN*.

Medição das amostras de pacientes - As amostras são diluídas automaticamente na relação de 1:100 com N Diluente. Têm de ser medidas dentro de quatro horas. Para os valores medidos que se situem fora do intervalo de medição, a medição pode ser repetida a partir de uma diluição de amostra superior ou inferior. As repetições de medição feitas a partir de outras diluições de amostras estão descritas no manual de utilização dos sistemas BN*.

Controlo de qualidade interno - O Controlo N Cystatin C Level 1 e Level 2 deverá ser utilizado após a preparação de cada curva de referência, após a primeira utilização de um frasco de reagente ou em cada série de amostras.
Na preparação e na avaliação do teste, o controlo é tratado como as amostras do paciente. O valor nominal está indicado no respectivo rótulo. No sistema BN ProSpec® pode ser lido no CD com as indicações de lote (ref. OVLP). Como intervalo de confiança aplica-se o valor nominal de ±20 %. O valor nominal indicado serve para o controlo de qualidade no laboratório, para a avaliação da precisão e desvio analítico. Se for utilizado como controlo de precisão, o valor e os limites de controlo deverão ser determinados pelo utilizador num período prévio.
Se o resultado das medições de controlo se situar fora do intervalo de confiança, a determinação do controlo deverá ser repetida. Se o desvio for confirmado pela repetição da medição, deverá ser estabelecida uma curva de referência nova. Os resultados dos pacientes só deverão ser divulgados se a causa do desvio tiver sido identificada e eliminada.

Resultados - A avaliação é efetuada automaticamente em mg/l ou numa unidade de massa derivada, a selecionar pelo utilizador do sistema BN*.

Limitações do procedimento - As interferências provocadas pelos fatores reumatóides são suprimidas com a utilização do reagente complementar N Cystatin C .

As turvações e as partículas nas amostras podem perturbar a determinação. Por isso, as amostras que contêm partículas deverão ser centrifugadas antes da determinação. As amostras lipémicas ou que contêm partículas que não se conseguem clarificar com a centrifugação (10 min. A aprox. 15.000 x g), deverão ser excluídas da determinação.

Não foi possível constatar qualquer interferência provocada por medicamentos imunosupressores (Ciclosporina, Tacrolimus, Sirolimus, Micofenolato ou Azatioprina). A eventual interferência provocada pelos anticorpos monoclonais ou policlonais utilizados no tratamento de pacientes com transplantações não foi investigada.

OQNM G13 C0540 (1849) CS 8 Para garantir resultados seguros no sistema BN* 100, as determinações de cistatina C deverão ser processadas na manhã que antecede a rotina, depois de as cuvetes de reação N, cheias com solução de lavagem, terem repousado aprox. 16 horas. Alternativamente, pode ser utilizado um jogo de cuvetes de reação N reservado exclusivamente para a determinação de cistatina C.

Se o total de proteína na urina ou liquor tiver sido medido no dia anterior, é necessário utilizar, em todos os casos, um jogo separado de cuvetes.

Os resultados deste teste devem ser sempre interpretados em conexão com os antecedentes do paciente, o quadro clínico e os outros resultados de análise.

Devido aos efeitos matriciais, as amostras de controlo ou amostras de investigação interlaboratorial podem apresentar resultados diversos, em função dos métodos de determinação utilizados.

Por isso, poderá ser necessário proceder à avaliação destes resultados com base em valores alvo específicos do método pré-fixados.

Intervalo de referência - A determinação do intervalo de referência foi feita com base numa população de 413 pessoas aparentemente saudáveis, que não apresentavam quaisquer doenças renais, população essa que abrangia 194 indivíduos do sexo masculino e 219 indivíduos do sexo feminino com a idade entre 1 e 78 anos. O intervalo de referência não foi calculado com base em parâmetros e é de 0,53 - 0,95 mg/l. Ele representa a faixa central de 95 % da população investigada.

Além disso, cada laboratório deverá determinar os seus intervalos de referência próprios, já que estes estão sujeitos a influências múltiplas, que podem ser diferentes para cada população analisada.

Características do teste

Sensibilidade - A sensibilidade da determinação é definida pela curva inferior da curva de referência e depende, assim, da concentração da proteína no N Protein-Standard UY. A sensibilidade analítica, calculada a partir do valor médio de uma determinação de 20 vezes do N Diluente, mais o dobro do desvio do padrão standard era de 0,005 mg/l.

Especificidade - Não se conhecem reações cruzadas dos anticorpos utilizados.

Precisão - Com o teste N Latex Cystatin C foram apuradas no sistema BN* determinações duplas do controlo N Cystatin C Level 1 e Level 2 e três pools de soro e de plasma no intervalo de 0,8 a 7,1 mg/l de cistatina C, durante 20 dias e sempre em duas séries.

Características de precisão de Cistatina C				
	Valor médio (mg/l)	**Na série** SD (% CV)	**De série em série** SD (% CV)	**Total** SD (% CV)
Controlo N Cystatin C, Level 1	0,9	2,5	2,0	2,8
Controlo N Cystatin C, Level 2	1,8	2,3	2,2	2,9
Pool de soro 1	0,8	2,5	1,5	2,4
Pool de soro 2	2,3	2,6	3,5	4,3
Pool de soro 3	7,1	1,7	2,4	2,9
Pool de plasma 1	0,8	3,1	1,9	3,1
Pool de plasma 2	2,6	1,5	2,9	3,4
Pool de plasma 3	6,5	2,5	1,8	2,7

Comparação de métodos - A concentração de cistatina C foi medida em 698 amostras (concentração de cistatina C até 7,58 mg/l) no sistema BN* II (y) e determinada, comparativamente, com a creatinina (x).

Análise regressiva dos resultados da comparação de métodos						
	Aumento (95% do intervalo de confiança)	Segmento axial (95% do intervalo de confiança)	r	S xy	Intervalo de cistatina C (mg/l)	n
Ponto de controlo A	0,52 ±0,03 (0,46, 0,58)	1,11 ±0,12 (0,87, 1,35)	0,891	0,89	0,57 - 7,58	100
Ponto de controlo B	0,70 ±0,02 (0,66, 0,74)	0,39 ±0,04 (0,31, 0,47)	0,833	0,41	0,46 - 4,83	499

Ponto de controlo C	0,79 ±0,05 (0,69, 0,89)	0,30 ±0,15 (0,01, 0,59)	0,843	0,86	0,54 - 6,34	99

Sensibilidade clínica e especificidade - Neste estudo foram incluídos 500 Pacientes cujo GFR foi determinado com um procedimento de homologação Iothalamat. Destes, 363 (73 %) tinham um GFR anormal de acordo com a homologação Iothalamat. As amostras destes pacientes foram medidas num sistema BN* II com N Látex Cystatin C e examinadas comparativamente com a creatinina. N Látex Cystatin C e a determinação de creatinina apresentavam uma especificidade de diagnóstico equivalente (82 % vs. 88 %, p = 0,170). A sensibilidade de diagnóstico de N Látex Cystatin C era significativamente superior à da determinação de creatinina (94 % vs. 81 %, p<0,001).

Sensibilidade clínica e especificidade		
	Resultado (%)	**95% de intervalo de confiança (%)**
Cistatina C		
Sensibilidade de diagnóstico	94	(91,96)
Especificidade de diagnóstico	82	(76,89)
Valor positivo prognosticado	93	(91,96)
Valor negativo prognosticado	83	(77,89)
Creatinina		
Sensibilidade de diagnóstico	81	(77,85)
Especificidade de diagnóstico	88	(83,94)
Valor positivo prognosticado	95	(92,97)
Valor negativo prognosticado	64	(57,71)

Nota: Os valores indicados para as características de performance da determinação representam resultados típicos e não devem ser considerados como especificação para o kit N Látex Cystatin C.

Bibliografia:V. Folheto Informativo em inglês.

Diagnóstica São Paulo Produtos e Equipamentos para Laboratórios Ltda.
Av. Indianópolis,3213 1º andar
Telefax: 5581-0157
Site: www.diagnosticasp.com.br
Email: diagnosticasp@sti.com.br